

KARAKTERISTIK GELATIN TULANG IKAN NILA DENGAN HIDROLISIS MENGUNAKAN ASAM FOSFAT DAN ENZIM PAPAIN

*Characteristics of Bone Gelatin Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processed by Using Hydrolysis With Phosphoric Acid and Papain Enzyme*

Gugun Hidayat*, Eko Nurcahya Dewi, Laras Rianingsih

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Diponegoro. Jalan. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275,
Telepon/Faks. +6224 7474698

*korespondensi: hidayatgugun10@gmail.com

Diterima: 4 November 2015/ Review: 19 Januari 2016/ Disetujui: 15 April 2016

Cara sitasi: Hidayat G, Dewi EN, Rianingsih L. 2016. Karakteristik gelatin tulang ikan nila dengan hidrolisis menggunakan asam fosfat dan enzim papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 69-78.

Abstrak

Gelatin tulang merupakan hasil hidrolisis kolagen tulang ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan bantuan asam fosfat dan enzim papain. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat fisiko-kimia gelatin tulang ikan nila yang diproses melalui hidrolisis dengan asam fosfat dan enzim papain serta untuk mengetahui konsentrasi asam fosfat dan enzim papain terbaik yang ditambahkan pada proses pembuatan gelatin tulang. Gelatin tulang ikan nila diolah dengan menggunakan konsentrasi asam fosfat 6%, enzim papain 1,5%, serta dibandingkan dengan kontrol. Masing-masing data diulang 3 kali dan diolah menggunakan analisa ragam (ANOVA), jika ada perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian hidrolisis enzim papain konsentrasi 1,5% menunjukkan gelatin dengan kriteria mutu: kekuatan gel 376,21 g.bloom; viskositas 7,57 cP; rendemen 6,30%; kadar protein 86,46 %; kadar air 7,12 %; dan nilai pH 5,11.

Kata kunci: asam fosfat, enzim papain, gelatin, hidrolisis, tulang ikan nila

Abstract

Phosphoric acid and papain enzyme able to hydrolyzing collagen from Tilapia into gelatin . The purpose of this research was to determine the best concentration of phosphoric acid and papain enzyme and to determine the physicochemical characteristic gelatin to from Tilapia fish bone which processed with phosphoric acid and papain enzyme. The first research phase was making bone gelatin tilapia using phosphoric acid at concentration of 4%, 5% and 6%, and the papain enzyme 0.5%, 1% and 1.5%. The second phase was characterize the physicochemical gelatin from the best concentration of phosphoric acid concentration (6%) and papain enzyme (1.5%), all treatment done with three repetitions. Analysis of the data using ANOVA with completely randomized (CRD) design If there was difference between treatment then continued with Honestly Significant Difference Test (HSDT). The results of the first research phase found the best concentration were 6% of phosphoric acid and 1.5% papain enzyme, its shows by the value gel strength 325,95 and 373,32 g.bloom. The second research phase shows that the the best results obtained in this study was gelatin from 1.5% papain enzyme as hydrolysis agent, the physicochemical characteristic were: 376.21 g.bloom gel strength; viscosity of 7.57 cP; yield 6.30%; protein content of 86.46%; water content of 7.12%; and the pH value of 5.11.

Keywords : gelatin, hydrolysis, papain enzyme, phosphoric acid, tilapia bones

PENDAHULUAN

Umumnya gelatin yang beredar di pasaran kebanyakan berasal dari kulit atau tulang babi

dan sapi. Penggunaan gelatin dari sapi untuk keperluan pangan perlu diperhatikan aspek kesehatan yang berkaitan dengan penyakit

sapi gila (*mad cow*) dan memberikan masalah tersendiri bagi masyarakat umat Hindu, sedangkan penggunaan babi sebagai bahan dasar pembuatan gelatin memberikan masalah bagi masyarakat muslim terkait kehalalannya. Maka dari itu perlu mencari alternatif bahan dasar pembuatan gelatin, salah satunya adalah dari tulang ikan Nila hasil limbah pengolahan filet ikan.

Volume produksi ikan Nila hasil budidaya di Indonesia mencapai 328.473 ton (tahun 2011) dan mengalami kenaikan menjadi 338.659 ton (tahun 2012). Permintaan akan daging filet Nila sangat tinggi. Tercatat ekspor filet ikan Nila dalam bentuk beku Indonesia di pasar Amerika Serikat menduduki peringkat ke dua setelah Cina (Pusat Data Statistik dan Informasi 2013). Tingginya jumlah ikan Nila yang diolah akan menyebabkan limbah tulang yang dihasilkan juga tinggi, sehingga didapatkan rendemen tulang setiap harinya sebanyak 5,5 ton (Dadang *et al.* 2007).

Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang ada pada kulit, tulang dan tulang rawan. Struktur gelatin tersusun atas asam amino dimana glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidroksiprolin (Chaplin 2005). Gelatin adalah produk yang diperoleh melalui aktivitas asam, basa atau enzimatis dari kolagen. Kolagen merupakan komponen protein utama dari kulit, tulang, dan jaringan ikat hewan, termasuk ikan dan unggas (Gelatin Manufacturers Institute of America 2013). Selama ini pemanfaatan tulang ikan masih belum optimal, hanya sebatas untuk pakan ternak maupun pupuk yang memiliki nilai ekonomis rendah, padahal tulang ikan Nila masih banyak mengandung protein kolagen. Kolagen merupakan protein serabut yang banyak terkandung pada jaringan ikat hewan.

Penelitian mengenai kolagen dan gelatin telah banyak dilakukan diantaranya gelatin dari kulit ikan patin dalam pembuatan jeli

(Eveline *et al.* 2011), ekstraksi gelatin dari ikan kakap merah (Trilaksani *et al.* 2012), permen jelly dari gelatin ikan cucut (Suptijah *et al.* 2013) ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari teripang (Alhana *et al.* 2015).

Prinsip dasar pembuatan gelatin terbagi menjadi 3, yaitu perlakuan awal bahan baku, ekstraksi untuk mengkonversi kolagen menjadi gelatin, dan pemurnian gelatin. perlakuan awal bahan baku dapat menggunakan larutan asam, basa, ataupun enzim proteolitik (Ofori 1999). Larutan asam banyak digunakan untuk menghidrolisis kolagen yang terdapat pada tulang hewan, sedangkan larutan basa banyak digunakan untuk menghidrolisis kolagen pada kulit hewan, namun masih sedikit yang menggunakan ikan. Penggunaan enzim pada pembuatan gelatin masih jarang dilakukan sehingga perlu adanya sebuah penelitian tentang kemampuan enzim dalam menghidrolisis kolagen. Saat ini penelitian tentang pembuatan gelatin dari tulang ikan Nila dengan bahan hidrolisis asam fosfat dan enzim papain belum banyak dilakukan oleh para peneliti.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik gelatin tulang ikan nila (*O. niloticus*) yang diproses melalui hidrolisis dengan asam fosfat dan enzim papain, serta menganalisis kualitas gelatin yang dihasilkan, sehingga didapatkan perlakuan dengan bahan hidrolisis terbaik.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang ikan Nila yang diperoleh dari PT. Aquafarm Nusantara, Semarang. Tulang ikan Nila dibersihkan sehingga didapatkan tulang bersih tanpa daging yang menempel. Bahan tambahan yang digunakan antara lain Asam Klorida (HCl), Asam fosfat (H_3PO_4), dan enzim papain komersil.

Alat-alat digunakan meliputi waterbath, TA-TX2, *moisture analyzer*, viscometer, dan pH meter.

Metode Penelitian

Prosedur pembuatan gelatin mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Yuniarifin *et al.* (2006) dan Jamilah *et al.* (2013) dengan modifikasi jenis dan konsentrasi bahan serta waktu perendaman. Prosedurnya adalah sebagai berikut: tulang ikan nila dibersihkan dari daging, kulit dan sisik, kemudian dicuci menggunakan air dan dihilangkan lemaknya (*degreasing*). Tahap selanjutnya bahan baku dikecilkan ukurannya menjadi 2–3 cm. Sampel selanjutnya direndam menggunakan larutan asam klorida 5% (v/v) selama 24 jam untuk penghilangan mineral (*demineralisasi*). Tahap berikutnya ossein yang terbentuk dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan material asam klorida dan kemudian direndam menggunakan larutan asam fosfat 6% (v/v) untuk perlakuan pertama dan enzim papain 1,5% (w/v) untuk perlakuan kedua dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan dengan penambahan asam fosfat sampel dinetralkan dengan cara mencuci dengan air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan material asam, sedangkan perlakuan enzim papain dilakukan penonaktifan pada suhu 80°C selama 3 menit. Sampel diekstraksi dalam Waterbath pada suhu 70°C selama 4 jam, kemudian disaring menggunakan kain blacu. Hasil ekstraksi dikeringkan menggunakan oven pada suhu 70°C selama \pm 24 jam. Gelatin yang terbentuk ditepungkan untuk diuji dengan parameter:

Kekuatan Gel (Gelatin Manufacturers Institute of America 2013)

Kekuatan gel gelatin adalah ukuran kekuatan gel yang terbentuk dari larutan 6,67% yang dipersiapkan sesuai kondisi tertentu. Ukuran kekuatan gel dinyatakan dengan bloom. Bloom adalah ukuran kekuatan (berat) yang diperlukan untuk menekan area yang ditentukan dari permukaan sampel jarak 4mm. Pengujian kekuatan gel menggunakan alat TA.TX2 *texture analyzer*.

Viskositas (Gelatin Manufacturers Institute Of America 2013)

Pengujian viskositas menggunakan larutan gelatin 6,67% pada suhu 60°C dengan mengukur waktu yang dibutuhkan untuk 100 mL larutan untuk mengalir melalui pipet standar. Pengukuran viskositas menggunakan alat viskometer.

Rendemen (Sanaei *et al.* 2013)

Nilai rendemen gelatin merupakan perbandingan dari jumlah gelatin kering yang dihasilkan dengan berat total tulang ikan yang digunakan.

Kadar Protein (AOAC 1999)

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode mikrokjeldahl. Prinsip analisis ini adalah menetapkan protein berdasarkan oksidasi bahan-bahanberkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia. Selanjutnya amonia bereaksidengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Setelah larutan menjadi basa, amonia diuapkan untuk diserap dalam larutan asam borat. Jumlah nitrogen yang terkandung ditentukan dengan titrasi HCl. Cara penentuannya adalah meliputi tahap berikut :

Tahap Destruksi : mula-mula sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Ditambahkan $\frac{1}{4}$ tablet Kjeldahl dan 10 ml H_2SO_4 . Larutan dididihkan sampai cairan menjadi jernih tidak berwarna atau hijau muda (minimum 2 jam dan tidak kurang 30 menit). Setelah larutan didinginkan, ditambahkan sedikit air secara hati-hati.

Tahap Destilasi: untuk alat destilasi, labu dilengkapi dengan kondensor dan diletakkan sehingga ujung kondensor tercelup ke dalam larutan asam. Labu Kjeldahl yang berisi sampel yang sudah didestruksi diletakkan di dalam sistem destilasi, dipanaskan hingga semua gelembung ammonia keluar, destilat ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 25 ml NaOH dan dua tetes *metilen blue* (sampai jumlah destilat kira-kira 200 mL).

Tahap Titirasi: setelah selesai dalam tahap destilasi, rangkaian destilasi dibongkar hati-hati, ujung kondensor dibilas dengan akuades, dan kelebihan larutan NaOH dalam destilat dititrasi dengan larutan HCl standar, akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah muda.

Kadar Air (SNI 06-3735-1995)

Cawan porselen dikeringkan pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian didinginkan dan ditimbang. Sampel yang akan ditentukan kadar airnya ditimbang sebanyak 5 gram. Cawan yang telah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven bersuhu 105°C sampai beratnya konstan.

Nilai pH (Gymez-Guillén dan Montero 2001)

Penentuan nilai pH gelatin dengan melarutkan 6,67% gelatin, kemudian diukur menggunakan alat pH meter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen tertinggi, yaitu 8,10±0,17 berasal dari pengolahan gelatin dengan perlakuan bahan hidrolisis asam fosfat diikuti perlakuan kontrol 7,40±0,17%, dan enzim papain 6,30±0,30% (Tabel 1). Yuniarifin *et al.* (2006) menjelaskan bahwa rendemen gelatin tulang sapi yang diproses dengan berbagai konsentrasi asam fosfat menghasilkan rendemen gelatin sebesar 6,97 %. Mulyani *et al.* (2006) menggunakan asam klorida, asam sulfat dan asam fosfat pada tulang ikan Kakap merah menghasilkan rendemen gelatin gelatin sebesar 14, 12 dan 10%.

Rendemen gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan bahan hidrolisis asam fosfat memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan bahan hidrolisis enzim papain dan kontrol. Hal ini diduga karena proses asam yang mampu membuka struktur kolagen yang lebih besar dan mengakibatkan struktur kolagen menjadi semakin mengembang dan terbuka Tingkat pembukaan struktur kolagen

yang semakin tinggi menyebabkan jumlah kolagen yang terekstrak semakin banyak (Ratanathammapan 2005).

Nilai rendemen yang dihasilkan oleh perlakuan enzim papain paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan enzim saat hidrolisis jumlah kolagen yang terkonversi sedikit sehingga transformasi menjadi gelatin juga rendah (Jamilah *et al.* 2013). Banyaknya rendemen gelatin tidak selalu berkorelasi positif dengan kekuatan gel. Terjadinya peningkatan kekuatan gel ini berhubungan dengan banyaknya jumlah kolagen yang terkonversi dan mengalami transformasi menjadi gelatin akibat pengaruh asam. Faktor lain yang mempengaruhi nilai rendemen adalah perbedaan perlakuan selama proses termasuk bahan perendaman dan konsentrasi yang digunakan (Ledward 2000).

Kekuatan Gel

Kekuatan gel gelatin yang tertinggi yaitu 376,21±0,69 g.bloom dihasilkan dari pengolahan gelatin yang menggunakan bahan hidrolisis enzim papain. Hasil ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan gelatin yang dihidrolisis dengan bahan asam fosfat. (332,87±2,54 g bloom), dan kontrol 303,18±0,88 g bloom (Tabel 1). Nilai ini sudah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh GMIA (2012), yaitu kekuatan gel berkisar diantara 50-300g bloom untuk gelatin komersial Junianto *et al.* (2006), menjelaskan bahwa nilai kekuatan gel gelatin tulang ikan nila 171 g.

Rendahnya kekuatan gel pada perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan lainnya diduga karena pada perlakuan kontrol belum mampu menghidrolisis secara selektif dan juga belum mampu mendegradasi protein kolagen secara baik, sehingga pada saat ekstraksi protein kolagen belum dapat memutus ataupun merusak ikatan struktur triple-helix. Perlakuan asam fosfat mampu mendegradasi molekul kolagen ke tingkat yg lebih sederhana, mampu mengubah struktur protein triple-

Tabel 1 Karakteristik gelatin tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui hidrolisis asam fosfat dan enzim papain

Parameter	Jenis Bahan Hidrolisis		
	(K0)	(A)	(E)
Rendemen (%)	7,40±0,17b	8,10±0,17c	6,30±0,30a
Kekuatan Gel (g.bloom)	303,18±0,88a	332,87±2,54b	376,21±0,69c
Viskositas (cP)	1,60±0,70 a	4,13±3,95b	7,57±1,25c
Kadar Protein (%)	34,56±0,94a	63,25±1,56b	86,46±0,72c
Kadar Air (%)	10,65±0,33c	9,30±0,33b	7,12±0,44a
pH	3,38±0,02a	4,23±0,01b	5,11±0,01c

Keterangan: K0: Gelatin tanpa bahan hidrolisis (kontrol), A: Gelatin dengan bahan hidrolisis asam fosfat 6%, E: Gelatin dengan bahan hidrolisis enzim papain 1,5%. Data pada tabel yang diikuti huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

helix menjadi rantai tunggal. Menurut Huda *et al.* (2013), kekuatan gel tergantung dari panjang rantai asam aminonya. Jika kondisi kolagennya telah terhidrolisis ketinggian yang lebih sederhana, maka kekuatan gel dapat meningkat. Kolagen yang telah terhidrolisis dapat menghasilkan rantai polipeptida yang panjang. Kekuatan gel menunjukkan kemampuan gelatin untuk berubah dari fase gel menjadi sol dan sebaliknya, atau bersifat reversible. Sifat ini yang menyebabkan gelatin sangat luas penggunaannya, baik dalam bidang pangan maupun non pangan (Kusumawati *et al.* 2008).

Kekuatan gel gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan bahan enzim papain memiliki nilai paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena enzim dapat menghidrolisis protein kolagen secara selektif, enzim hanya bekerja pada rantai peptida non-helik protein kolagen sehingga enzim papain mampu mempertahankan bagian triple-helix protein kolagen. Sedangkan asam fosfat menghidrolisis protein kolagen tidak secara selektif, asam memiliki tingkat degradasi kolagen yang tinggi. Asam mampu mengubah serat kolagen yang memiliki struktur triple-helix menjadi rantai tunggal, sehingga berat molekul yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan enzim. Menurut Yang dan Shu, (2014) enzim dapat menghidrolisis protein kolagen secara selektif,

enzim kurang kuat dalam merusak protein. Metode yang menggunakan metode enzim bisa mendapatkan struktur protein triple-helix yang utuh, selain itu sifat fisik dan kimia yang dihasilkan juga stabil. Metode asam memiliki tingkat degradasi molekul kolagen yang sangat tinggi dibandingkan dengan metode enzim. Sehingga produk atau gelatin yang dihasilkan akan memiliki berat molekul yang lebih kecil.

Viskositas

Viskositas gelatin berkisar antara 7,57±1,25 sampai 4,13±3,95 cP dan kontrol 1,60±0,70 cP (Tabel 1). Nilai ini sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh GMIA (2001), yaitu antara 1,5–7,5 cP. Sebagai nilai pembanding pada penelitian Yuniarifin *et al.* (2006), menjelaskan bahwa nilai viskositas gelatin tulang sapi yang menggunakan berbagai konsentrasi asam fosfat menghasilkan nilai viskositas dengan konsentrasi terbaik asam fosfat 5% yaitu sebesar 1,89 cP. Abustamet *et al.*, (2008), menyatakan nilai viskositas gelatin kulit kaki ayam melalui proses denaturasi asam (asam cuka dan HCl), alkali (NaOH dan Ca(OH)₂) dan enzim (papain dan tripsin) menghasilkan nilai viskositas gelatin dengan perlakuan terbaik asam cuka dari kelompok asam yaitu sebesar 5,01 cP. Rendahnya viskositas yang dihasilkan oleh perlakuan tanpa bahan

(kontrol) dan perlakuan asam dibandingkan dengan bahan enzim. Hal ini diduga karena pada saat hidrolisis kolagen masih banyak kation asam yang terperangkap dalam osein sehingga hidrolisis kolagen berlajut pada penguraian polimer dan menyebabkan nilai pH juga turun. Semakin rendah nilai pH maka viskositas yang dihasilkan juga semakin rendah. Hal ini sesuai dengan nilai pH yang didapat oleh perlakuan bahan enzim yaitu sebesar 5,11. Menurut Stainsby, (1977) konsentrasi asam yang semakin tinggi, menyebabkan kation asam yang terperangkap dalam ossein semakin banyak, sehingga pH yang terukur semakin rendah (asam) dan hidrolisis kolagen akan berlanjut pada proses penguraian polimer kolagen. Faktor yang mempengaruhi viskositas adalah kadar air. Menurut Ward dan Courts (1977), viskositas juga erat kaitannya dengan kadar air. Semakin kecil kadar air gelatin maka kemampuan untuk mengikat air (membentuk gel) akan semakin tinggi. Semakin banyak jumlah air yang terikat oleh gelatin maka gel akan menjadi semakin kental. Hal tersebut sesuai dengan hasil kadar air yang didapat oleh perlakuan bahan hidrolisis enzim papain yang menghasilkan kadar air paling rendah yaitu 7,12%.

Viskositas gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan dengan bahan hidrolisis enzim papain menghasilkan gelatin dengan nilai viskositas paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini diduga oleh rantai asam amino yang dihasilkan oleh bahan hidrolisis enzim papain lebih panjang dibandingkan dengan bahan hidrolisis asam fosfat karena hidrolisis yang dilakukan oleh enzim dapat mempertahankan struktur protein kolagen triple-helix berbeda dengan perlakuan asam yang mampu memotong atau memutus ikatan triple-helix tersebut menjadi rantai tunggal, sehingga berat molekul yang dihasilkan kecil. Berat molekul berhubungan langsung dengan panjang rantai asam amino. Viskositas sangat berkaitan dengan berat molekul gelatin dan distribusi molekul.

Ward dan Courts (1977), menyatakan bahwa viskositas berhubungan dengan berat molekul (BM) rata-rata gelatin dan distribusi molekul, sedangkan berat molekul gelatin berhubungan langsung dengan panjang rantai asam aminonya, semakin panjang rantai asam amino maka nilai viskositas akan semakin tinggi. Konsentrasi larutan asam yang berbeda berpengaruh terhadap berat molekul (BM) gelatin yang dihasilkan.

Kadar Protein

Gelatin dengan bahan hidrolisis enzim papain memiliki kadar protein tertinggi yaitu $86,46 \pm 0,72\%$ dibandingkan dengan perlakuan asam fosfat $63,25 \pm 1,56\%$ dan kontrol $34,56 \pm 0,94\%$ (Tabel 1). Haris (2008) menyatakan bahwa nilai kadar protein gelatin tulang ikan Nila sebesar 84,85%. Rendahnya kadar protein gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan bahan hidrolisis asam fosfat maupun dengan bahan enzim papain diduga karena pada perlakuan kontrol tidak melalui perendaman lanjutan (curing) yang menggunakan bahan enzim ataupun asam fosfat, sehingga tidak ada tambahan hidrolisis yang terjadi yang mengakibatkan pelarutan protein kolagen tidak terjadi. Menurut Astawan dan Aviani (2003), kadar protein gelatin dipengaruhi oleh proses perendaman tulang dimana reaksi pemutusan ikatan hidrogen dan pembentukan struktur serabut kolagen terjadi secara optimal sehingga protein terekstrak dan terlepas dari gelatin akibatnya menurunkan kadar protein gelatin.

Kadar protein gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan dengan bahan enzim papain menghasilkan nilai kadar protein tertinggi dibandingkan dengan perlakuan bahan asam fosfat. Enzim papain mampu menghidrolisis protein kolagen secara selektif, berbeda dengan asam yang tidak mampu secara selektif dalam hidrolisis. Produk atau gelatin yang dihasilkan oleh hidrolisis enzim memiliki tingkat kemurnian yang tinggi sehingga sifat dan kimia yang dihasilkan juga stabil. Menurut

Wang *et al.* (2013), peningkatan kadar protein berkaitan dengan perubahan jumlah struktur ikatan asam amino yang menyusun protein kolagen. Tingginya jumlah protein yang larut menyebabkan kadar protein dalam produk gelatin juga cenderung meningkat.

Kadar Air

Gelatin dengan perlakuan tanpa bahan (kontrol) $10,65 \pm 0,33\%$ memiliki kadar air tertinggi dibandingkan dengan perlakuan asam fosfat $9,30 \pm 0,33\%$ dan enzim papain $7,12 \pm 0,44\%$ (Tabel 1). Nilai tersebut sesuai dengan SNI 06-3735-1995 tentang mutu dan syarat gelatin yang mensyaratkan kadar air gelatin maksimum 16%. Selain itu, menurut McCormick dan Goodhart (1995) dalam Gelatin Food Science (2002) kadar air gelatin dapat mencapai 16%, tetapi pada umumnya adalah sekitar 10% sampai 13%. Pada penelitian Haris (2008) didapatkan kadar air gelatin tulang ikan Nila yang diproses dengan HCl pada penyimpanan suhu ruang yaitu sebesar 7,03%. Nilai kadar air gelatin tulang ikan Patin yaitu sebesar 9,26% (Nurilmala, 2004). Bervariasinya kadar air ini diduga karena proses pengolahan yang menggunakan bahan hidrolisis yang berbeda.

Kadar air gelatin perlakuan kontrol nilainya lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan dengan bahan asam fosfat dan enzim papain. Perlakuan kontrol saat proses ekstraksi pembukaan struktur kolagen membesar sehingga kadar air dalam gelatin masih tinggi. Menurut Lestari (2005), kadar air yang tinggi di dalam gelatin dapat mengakibatkan terjadinya penurunan kekuatan gel, viskositas, dan titik leleh gelatin meskipun penurunan tersebut tidak signifikan. Hasil ini sesuai dengan hasil nilai viskositas yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol yang lebih rendah dibandingkan perlakuan lainya yaitu sebesar 1,6 cP.

Kadar air gelatin yang rendah dari perlakuan dengan bahan enzim papain dan perlakuan bahan asam fosfat dibandingkan dengan perlakuan kontrol diduga karena

enzim papain mampu membuka struktur ikatan silang pada protein kolagen dan tetap mempertahankan struktur triple-helik dan asam mampu memutus struktur triple-helix menjadi rantai tunggal, sehingga daya ikat air pada saat ekstraksi menjadi lemah. Ulfah (2011) menyatakan menurunnya kadar air gelatin disebabkan struktur kolagen yang terbuka dan lemah sehingga menghasilkan gelatin dengan struktur yang lemah, akibatnya daya mengikat air pada gelatin kurang kuat.

Nilai pH

Gelatin tanpa perlakuan bahan hidrolisis (kontrol) menghasilkan nilai pH $3,38 \pm 0,02$, nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan gelatin perlakuan bahan asam fosfat $4,23 \pm 0,01$ dan enzim papain $5,11 \pm 0,01$ (Tabel 1). Haris (2008) menyatakan bahwa nilai pH gelatin tulang ikan Nila yang diproses dengan HCl pada suhu ruang yaitu berkisar 3,31-4,01. Menurut Astawan dan Aviani (2003), gelatin dengan pH rendah sangat baik untuk digunakan dalam produk *juice*, *jelly*, sirup dan sebagainya.

Nilai pH gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan bahan enzim papain. Banyaknya asam yang menempel pada tulang pada saat proses perendaman, selain itu jenis dan banyaknya atau konsentrasi asam yang ditambahkan kedalam proses perendaman. Penambahan bahan enzim diduga mempengaruhi tingginya pH yang terkandung. Sedangkan pada kontrol keadaan pH asam oleh HCl saat perendaman (demineralisasi) kation asam terjebak di dalam protein kolagen sehingga gelatin yang dihasilkan memiliki pH yang lebih rendah. Menurut Junianto *et al.* (2006), pada saat terjadi pengembangan kolagen waktu perendaman, banyak sisa HCl yang tidak bereaksi terserap dalam kolagen yang mengembang dan terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit dinetralkan yang akhirnya ikut terhidrolisis pada proses ekstraksi dan mempengaruhi tingkat keasaman gelatin yang dihasilkan.

pH larutan perendam berpengaruh sangat nyata terhadap pH gelatin yang dihasilkan. Semakin tinggi pH larutan perendaman, maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman semakin rendah, begitupun sebaliknya (Peranganing *et al.* 2004).

Nilai pH gelatin yang rendah dari hasil perlakuan bahan asam fosfat dibandingkan dengan enzim papain diduga karena pada saat perendaman asam terjadi pengembangan sehingga banyak sisa asam fosfat yang tidak bereaksi dan terbawa pada saat ekstraksi yang menyebabkan nilai pH menjadi rendah. Nurilmala (2004) menyatakan bahwa rendahnya nilai pH pada gelatin tulang diakibatkan oleh penggunaan asam. Hal ini disebabkan masih ada sisa-sisa asam yang digunakan pada saat proses demineralisasi masih terbawa pada saat proses ekstraksi, yang akan mempengaruhi tingkat keasaman pada gelatin yang dihasilkan. Menurut Astawan dan Aviani (2003), nilai pH akan berpengaruh terhadap aplikasi gelatin. Gelatin dengan pH netral sangatlah baik untuk produk daging, farmasi, fotografi dan sebagainya. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut.

Pitpreecha and Damrongsakkul (2006) menambahkan bahwa proses hidrolisis menggunakan enzim papain komersial akan bekerja dengan baik pada situasi pH 7 dan suhu 75°C.

KESIMPULAN

Perlakuan perendaman menggunakan bahan hidrolisis asam fosfat dan enzim papain mempengaruhi karakteristik gelatin tulang ikan Nila yang dihasilkan. Gelatin tulang ikan nila dengan perbedaan bahan hidrolisis memberikan pengaruh nyata terhadap nilai rendemen, kekuatan gel, viskositas, kadar protein, kadar air dan nilai pH. Perlakuan enzim papain menghasilkan gelatin dengan kualitas terbaik, dengan nilai kekuatan gel dan viskositas paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abustam E, HM Ali, MI Said dan JCh Likadja. 2008. Sifat Fisik Gelatin Kulit Kaki Ayam Melalui Proses Denaturasi Asam, Alkali Dan Enzim. Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makasar
- Alhana, Suptijah P, Tarman K. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari teripang gama. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(2): 150-161.
- Astawan M dan Aviani T. 2003. Pengaruh Jenis Larutan Perendaman serta Metode Pengeringan terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Fungsional Gelatin dari Kulit Cucut. *Jurnal Teknol. Dan Industri Pangan*, Vol. XIV. No. 1. Chaplin, M. 2005. Gelatin. <http://www.Isbuc.ac.uk> [Diakses tanggal 15 Maret 2014].
- Chaplin, M. 2005. Gelatin. <http://www.Isbuc.ac.uk> [Diakses 15 Maret 2014].
- Dadang, WI Suhendar, Y Mardi, T Purbany, E Imam dan Ike. 2007. Sudah saatnya Nila Berjaya. <http://www.filletnilaekspor.html> [Diakses tanggal 15 Maret 2014].
- Eveline, Santoso J, Widjaja I. 2011. Kajian konsentrasi dan rasiogelatin dari ikan patin dan kappa karagenan pada pembuatan jeli. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan* 14(2): 98-105.
- Gelatin Food Science. 2002. Gelatin. <http://www.Geltech.co.za/gtml.html>. [Diakses tanggal 12 Maret 2015].
- [GMIA] Gelatin Manufacturers Institute of America. 2012. Gelatin Handbook. Amerika inc. <http://www.gelatin-gmia.com>. (Diakses tanggal 12 Juni 2014).
- _____. 2013. Standard Testing Methods for Edible Gelatin. Amerika inc. <http://www.gelatin-gmia.com>. (Diakses tanggal 17 April 2014).
- Gomez-Guillen, M.C and Montero, P. 2001. Extraction of Gelatin from Megrim (*Lepidorhombus boscii*) Skins with Several Organic Acids. Instituto del Frio (CSIC). Ciudad University, Madrid, Spain.

- Haris MA. 2008. Pemanfaatan Limbah Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Sebagai Gelatin dan Pengaruh Lama Penyimpanan Pada Suhu Ruang. [skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Huda WN, Atmaka W dan Nurhartadhi E. 2013. Kajian karakteristik fisik dan kimia gelatin ekstrak tulang kaki ayam, dengan variasi lama perendaman konsentrasi asam. *Jurnal Teknosains Pangan* 2(3).
- Jamilah B, Umi HMR, Mat HD and Sazili AQ. 2013. Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *International Food Research Journal* 20(2): 835-842.
- Junianto, Kiki H, dan Ine M. 2006. Produksi Gelatin Dari Tulang Ikan Dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul. Laporan Penelitian Hibah Bersaing IV Tahun I. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Kusumawati R. Tazwir, Wawasto A. 2008. Pengaruh Perendaman dalam asam khlorida terhadap kualitas gelatin tulang kakap merah (*Lutjanus* sp). *Jurnal pascapanen dan bioteknologi kelautan dan perikanan* 3(1).
- Ledward DA. 2000. Gelatin. In Hand Book of Hydrocolloids. Woodhead Pub. p. 67–86.
- Lestari SD. 2005. Analisis sifat fisika kimia dan rheologi gelatin kulit hiu gepeng (*Alopias* sp.) dengan penambahan MgSO₄, sukrosa, dan gliserol. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mulyani T, Sudaryati dan Rahmawati FS. 2006. Hidrolisis Gelatin Tulang Ikan Kakap Menggunakan Larutan Asam. *Jurnal Teknologi Pangan*. hlm:81-86. FTI UPN Veteran Surabaya.
- Nurilmala M. 2004. Kajian Potensi Limbah Tulang Ikan Keras (*Teleostei*) Sebagai Sumber Gelatin dan Analisis Karakteristiknya. [tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ofori RA. 1999. Preparation of Gelatin From Fish Skin By An Enzyme Alded Process. A Thesis Submitted To The Faculty of Graduate Studies And Research In Partial Fulfillment of The Requirements For The Degree of Master of Science. Department of Food Science And Agricultural Chemistry Macdonald Campus of Mcgill University Montreal. Canada
- Peranginangin R, Nurul H, Widodo FM dan Arham R. 2004. Ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) secara proses asam. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 11(3).
- Pitprecha S and Damrongsakkul 2006. Hydrolysis of raw hide using proteolytic enzyme extracted from papaya latex. *Korean Journal Chemistry Engineering* 23(6):972-976.
- [PUSDATIN] Pusat Data Statistik dan Informasi. 2013. Kelautan dan Perikanan dalam Angka. Jakarta: Kementrian Kelautan dan Perikanan.
- Ratanathammapan K. 2005. Effects of enzymatic conditions on gelatin production from raw hide, Master Dissertation, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Graduate School, Chulalongkorn University.
- Sanaci, A.V. Mahmoodani, F. See, S.F. Yusop, S.M dan Babji, A.S. 2013. Optimization of Gelatin Extraction and Physico-Chemical Properties of Catfish (*Clarias gariepinus*) Bone Gelatin. *International Food Research Journal* 20(1) : 423.
- Ulfah M. 2011. Pengaruh konsentrasi Larutan asam asetat dan lama waktu perendaman terhadap sifat-sifat gelatin ceker ayam. *Jurnal Agritech* 31(3): 161-167.
- Wang, Wei, Li Z, Liu J, Wang Y, Liu S, Sun M. 2013. Comparison between Thermal Hydrolysis and Enzymatic Proteolysis Processes for the Preparation of Tilapia Skin Collagen Hydrolysates. *Czech Journal Food Science* 31(1): 1–4.
- Ward AG, Courts A. 1977. The science and

- technology of gelatin, 67. New York: Academic Press.
- Yang Hua, Shu Z. 2014. The Extraction of Collagen Protein from Pigskin. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6(2):683-687.
- Yuniarifin VP, Bintoro, Suwarastuti A. 2006. Pengaruh berbagai konsentrasi asam fosfat pada perendaman tulang sapi terhadap rendemen, kadar abu dan viskositas gelatin. [skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.